

**БАКТЕРИАЛЬНАЯ ПРИРОДА ОТКЛОНЕНИЙ В
СООТНОШЕНИИ ПОЛОВ В ПОТОМСТВЕ
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
DROSOPHILA MELANOGASTER УКРАИНЫ**

С.В.Серга, А.С. Демидова, С.В.Демидов,
И.А.Козерецкая

Киевский национальный университет им.Тараса Шевченко

Вступление

Изучение генетических процессов в природных популяциях различных организмов имеет чрезвычайно высокое значение для современной генетики, так как дает возможность оценить данные процессы во времени и пространстве, в условиях проживания исследуемого вида. Важное место среди работ, посвященных данной тематике, занимают исследования природных популяций видов - популярных модельных объектов [1]. Одним из таких видов является *Drosophila melanogaster*. На сегодняшний день накоплен огромный экспериментальный материал по биологии и генетике данного организма, проводится пятое прочтение его генома, детально изучены этапы жизненного цикла. Такие данные позволяют корректно интерпретировать результаты исследований природных популяций, а также дают материал для сравнения генетических процессов в лаборатории и природных условиях [2].

Одной из важных характеристик раздельнополой популяции является соотношение полов, которое у дрозофилы в норме при отсутствии факторов, влияющих на его развитие, составляет 1:1 [3]. Однако, в природе такое соотношение полов наблюдается далеко не всегда. Так С. М. Гершензон в своих работах по изучению природных популяций *D. melanogaster* отмечал, что в потомстве некоторых отловленных в природе самок наблюдается отклонение от ожидаемого соотношения полов 1:1 в сторону резкого уменьшения количества самцов

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

[4]. Он объяснял подобное отклонение от теоретически ожидаемого соотношения мутационными изменениями у самок.

На сегодняшний день известным является влияние так называемых репродуктивных паразитов на половое размножение насекомых [5]. Они чрезвычайно распространены в природных популяциях беспозвоночных по всему миру [6, 7] и вызывают модификации полового размножения, такие как цитоплазматическая несовместимость, андроцид, переход к партеногенезу и феминизацию [8]. Указанные модификации полового размножения приводят к изменениям в соотношении полов в сторону увеличения количества самок, так как это является одной из стратегий большего распространения бактерий из-за преимущественно вертикальной передачи инфекции от поколения к поколению [5].

Целью данной работы было изучение соотношения полов в природных популяциях *D. melanogaster* Украины и при переводе самок из этих популяций к культивированию в лабораторных условиях. Мы предположили, что возможные отклонения в соотношении полов 1:1 в потомстве особей из исследуемых популяций имеют бактериальную природу.

Материалы и методы исследования

Материал. *D. melanogaster* является видом космополитом, широко представленным в различных уголках Земли, где ей позволяет температурный режим, в том числе и на Украине, а также классическим модельным объектом.

Места сбора дрозофилид. Выборки из природных популяции *D. melanogaster* были собраны на территории Украины в восьми различных локалитетах, в конце летнего сезона (август-сентябрь) 2005 года, а именно в Киеве, Одессе, Лубнах, Пирятине, Умани и Чернобыльской зоне (три субпопуляции). Особое место занимают популяции последнего региона, так как представляют собой зоны высокого радиационного загрязнения и, одновременно, территории со сниженным влиянием человеческого фактора. Сбор проводился в трех точках - Полесском (уровень радиационного фона составляет 50 мкР/час), непосредственно в городе Чернобыле (50 мкР/час), вблизи водоема-охладителя ЧАЭС (2100 мкР/час). Тогда как Умань,

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

Лубны, Пирятин - условно чистые точки, где уровень радиационного фона колебался в пределах 11-16 мкР/час. В Киеве, Одессе и городе Чернобыле материал собирали во фруктовых садах, в Лубнах, Пирятине и Умани - на территориях заводов по переработке фруктов, где ожидалась высокая плотность популяций. В Полесском и вблизи водоема-охладителя ЧАЭС для облегчения отлова были поставлены приманки, на которых потом и производился отлов. В других местах отлов производили с помощью энтомологического сачка.

Условия лабораторного разведения. В лабораторных условиях содержали 30 изосамочьих линий из каждой природной популяции и размножали в течении пяти поколений на стандартной среде (на 1 литр воды 6 г агара, 15 г дрожжей, 50 г сахара, 55 г манной крупы) при температуре 25°C [9]. В каждом поколении анализировали соотношение полов.

Опыт с тетрациклином. По 10 самок из всех исследуемых природных популяций были посажены на среду с добавлением антибиотика тетрациклина в концентрации 0,25 мг/мл [10]. Тетрациклин - антибиотик широкого действия, инактивирует малую субъединицу рибосом прокариот, что приводит к подавлению синтеза белка; активен в отношении целого ряда микроорганизмов. Потомков 10 самок содержали на такой среде на протяжении 2 поколений, в каждом анализировали соотношение полов.

Статистический анализ проводили стандартными методами, для оценки достоверности различий между группами использовали метод χ^2 [11].

Авторы выражают благодарность Проценко А.В. за поддержание культивируемых в лаборатории линий мух, А. Залискому, В. Миленко, Г. Милиневскому, И. Чижевскому а также сотрудникам биологического факультета Одесского университета за помощь в сборе материала.

Полученные результаты и их обсуждение

Всех представителей 8 выборок природных популяций по соотношению самцов и самок можно разделить на 3 группы. В Пирятине, Лубнах и Умани количество самцов, которые были собраны непосредственно в природе, статистически достовер-

но превышало количество самок. На полученном результате могли сказаться особенности мест сбора материала. Нельзя исключить возможности того, что на территории заводов по переработке фруктов основная масса самок находилась на субстрате и вследствие этого была недоступна для сбора (табл. 1).

Таблица 1

Количество самок и самцов, собранных в природных популяциях *D. melanogaster* Украины

Природная популяция	самки	самцы
Киев	208	138
Умань	478	704
Одесса	621	497
Чернобыль	80	70
Полесское	34	51
Водоем-охладитель ЧАЭС	41	35
Лубны	226	597
Пирятин	484	723

В Киеве и Одессе самки количественно преобладают над самцами. Все три чернобыльские группы особей были крайне малочисленны, что очевидно объясняется низкой плотностью этих природных популяций. Они характеризовались соотношением самцов и самок 1:1.

30 самок из всех исследуемых выборок природных популяций были переведены к лабораторному разведению. На протяжении пяти поколений наблюдалось нерегулярное чередование поколений, в которых соотношение полов либо составляло 1:1, либо количество самок достоверно превышало количество самцов. Такая картина характерна для потомков всех групп, включая популяции второй группы, для которых в природе количество самцов превышало количество самок (рис.1).

Такое отклонение от теоретически ожидаемого соотношения полов может объясняться либо наследуемыми факторами в геноме [4], либо другими причинами, одним из которых могут быть репродуктивные паразиты [5]. Для проверки гипотезы о бактериальной природе установленных отклонений от соотношения полов 1:1 в выборках природных популяций был проведен следующий эксперимент. По 10 самок из всех исследуемых

двух популяций были перенесены на среду с добавлением тетрациклина в концентрации 0,25 мг/мл.

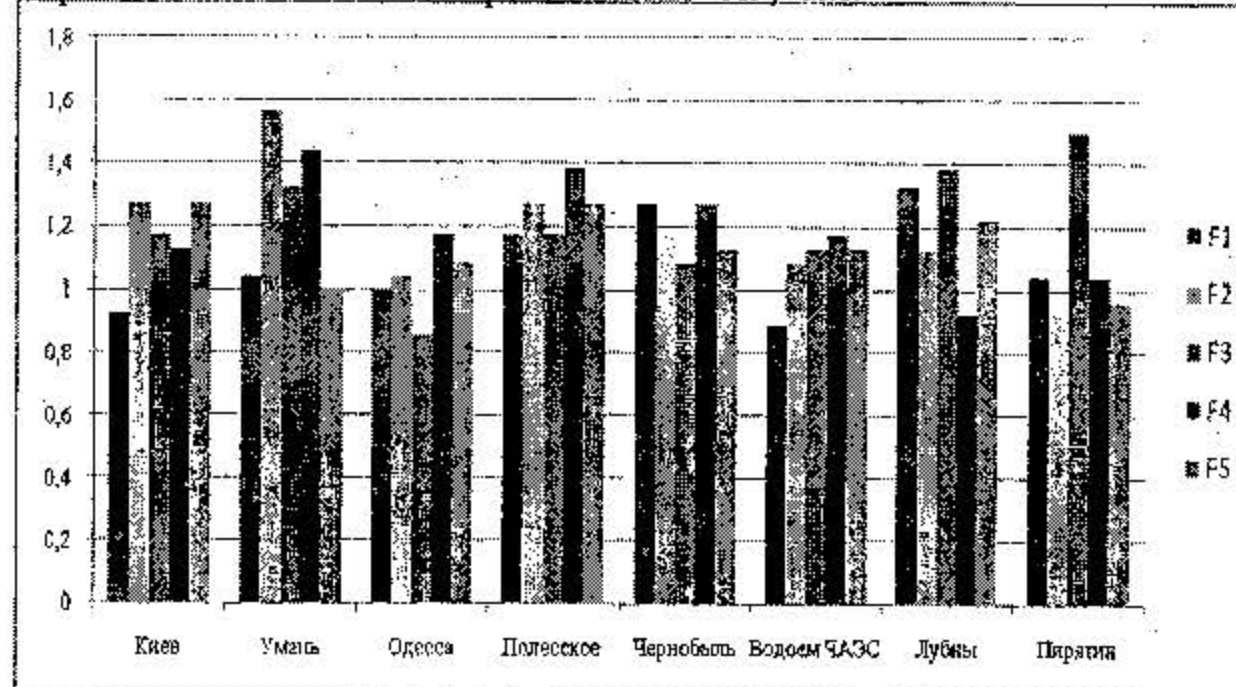


Рис. 1. Соотношение самки/самцы в пяти поколениях лабораторного разведения выборок природных популяций сбора 2005 года.

У потомков таких "тетрациклиновых" популяций в течение двух поколений наблюдали четкое соотношение полов 1:1. Известно, что тетрациклин - антибиотик широкого действия и убивает представителей различных таксономических групп микроорганизмов. Эксперименты по выявлению бактерий, ассоциированных с особями *D. melanogaster* из различных популяций, показали наличие 16S рДНК целого ряда микроорганизмов из различных таксономических групп в тотальной ДНК данного вида [12]. На основе этих фактов мы делаем вывод, что отклонения в соотношении полов от ожидаемых 1:1 у потомков особей природных популяций *D. melanogaster* Украины вызываются бактериальными агентами, чувствительными к тетрациклину.

В этой связи хотелось бы отметить, что наиболее распространенной бактерией в популяциях данного вида и в тоже время чувствительной к тетрациклину является репродуктивный паразит *Wolbachia* [13]. Однако, для данной бактерии подобные эффекты у *D. melanogaster* не описаны. К ее влияниям у этого вида дрозофил относят лишь низкий уровень цитоп-

лазматической несовместимости, который выражается в невозможности скрещивания инфицированных и неинфицированных особей [14]. Еще один чувствительный к тетрациклину симбионт *D. melanogaster* - бактерии рода *Spiroplasma* - вызывают другую модификацию полового размножения - андрокид, что выражается в полном или почти полном отсутствии в потомстве инфицированных самок особей мужского пола [15]. В изосамочьих линиях из природных популяций Украины такого эффекта не наблюдается. Однако следует отметить, что 99% видов бактерий, которые распространены в природных популяциях *D. melanogaster*, все еще остаются некультивируемыми, и влияние их на организм-хозяина пока неизвестно [12]. Следовательно, остается открытым вопрос о конкретном виде бактериальной инфекции, вызывающей описанные эффекты в соотношении полов в природных популяциях дрозофилы на Украине. Выяснение этого вопроса требует проведения дальнейших исследований.

Выводы

Соотношение полов в природных популяциях *D. melanogaster* Украины не соответствует 1:1. Причина подобных отклонений в соотношении полов имеет бактериальную природу.

Литература

1. Источники генетической изменчивости в природных популяциях *Drosophila melanogaster* / [Захаров И.К., Ваулин О.В., Илинский Ю.Ю. и др.] // Вестник ВОГиС. - 2008. - Т. 12, № 1-2. - С. 112-126.
2. Ashburner M. *Drosophila. A laboratory handbook* / Ashburner M. - Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. - 1331 pp.
3. Bridges C.B. Sex in relation to chromosomes and genes / C.B. Bridges // Amer. Naturalist. - 1925. - Vol. 59. - P.127-137.
4. Гершензон С.М. Аналитический обзор исследований по популяционной генетике, проведенных в Национальной академии наук Украины / С.М. Гершензон. - Киев, 1996. - 72 с.
5. O'Neill S.L. Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction / S.L. O'Neill, A.A. Hoffmann, J.H. Werren. - Oxford University Press, 1997. - 214 p.

6. Werren J. H. *Biology of Wolbachia* / J. H. Werren // *Annu. Rev. Entomol.* - 1997. - Vol. 42. - P. 587-609.
7. *The diversity of reproductive parasites among arthropods: Wolbachia do not walk alone* / [Duron O., Bouchon D., Boutin S. et al.] // *BMC Biol.* - 2008. - Vol. 6. - № 27. - doi:10.1186/1741-7007-6-27.
8. Захаров И.А. Бактерии управляют половым размножением насекомых / И.А.Захаров // *Природа.* - 1999. - №5. - С. 48-57.
9. Roberts D.B. *Drosophila a practical approach* / D.B.Roberts. - Oxford, 1986. - 295 p.
10. Fry A.J. Variable fitness effects of Wolbachia infection in *Drosophila melanogaster* / A.J.Fry, M.R.Palmer, D.M.Rand // *Heredity.* - 2004. - Vol. 93. - P.379-389.
11. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В.Ю.Урбах. - М.: Медицина, 1975. - 296 с.
12. *Geographical Distribution and Diversity of Bacteria Associated with Natural Populations of Drosophila melanogaster* / [Corby-Harris V., Pontaroli A.C., Shimkets L.J. et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2007. - Vol.73., № 11. - P. 3470-3479.
13. *How many species are infected with Wolbachia? - A statistical analysis of current data* [Hilgenboecker K., Hammerstein P., Schlattmann P. et al.] // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2008. - Vol. 281. - P. 215-220.
14. Hoffman A.A. Population dynamics of the Wolbachia infection causing cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* / A.A.Hoffman, M.Hercus, H.Dagher // *Genetics.* - 1998. - Vol. 148. - P.221-231.
15. *Male-killing selfish cytoplasmic element causes sex-ratio distortion in Drosophila melanogaster* / [Montenegro H., Souza W. N., Leite D. D. S. et al.] // *Heredity.* - 2000. - Vol. 85. - P.465-470.

Резюме

Серга С.В., Демидова А.С., Демидов С.В., Козерецька І.А. Бактеріальна природа отклонений в соотношении полов в потомстве представителей природных популяций *Drosophila melanogaster* Украины.

Показано отклонение в соотношении полов от 1:1 в выборках восьми природных популяций *Drosophila melanogaster* Украины. При введении мух в культуру в течение пяти поколений наблюдалось нерегулярное чередование поколений, в которых соотношение полов составляло либо 1:1, либо количество самок достоверно превышало количество самцов. При переводе особей на среду с добавлением антибиотика тетрациклина соотношение полов в потомстве всегда составляло 1:1. Этот факт позволяет сделать вывод о том, что причина наблюдаемых отклонений от теоретически ожидаемого соотношения полов в природных популяциях дрозофил Украины имеет бактериальную природу.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, природные популяции, пол.

Резюме

Серга С.В., Демидова А.С., Демидов С.В., Козерецька І.А. Бактеріальна природа відхилень у співвідношенні статей у нащадків представників природних популяцій *Drosophila melanogaster* України.

Показано відхилення у співвідношенні статей від 1:1 у вибірках восьми природних популяцій *Drosophila melanogaster* України. При введенні мух в культуру спостерігалось нерегулярне чергування поколінь, в яких співвідношення статей або складало 1:1, або кількість самок достовірно перевищувала кількість самцівтягом п'яти генерацій. При переведенні особин на середовище з додаванням антибіотику тетрацикліну співвідношення статей у нащадків завжди складало 1:1. Такий факт дозволяє зробити висновок про те, що причина спостережуваних відхилень від теоретично очікуваного співвідношення статей в природних популяціях дрозофил України має бактеріальну природу.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, природні популяції, стать.

Summary

Serga S.V., Demydova A.S., Demydov S.V., Kozeretska I.A. Bacterial nature of sex ratio deviations in offspring of *Drosophila melanogaster* from Ukrainian populations.

We show deviations of sex ratio from 1:1 in samples of eight natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine. A fly culture maintained during 5 generations demonstrated irregular alternation of generations with sex ratios either 1:1 or with females significantly outnumbering males. Transferring the culture on a medium containing tetracycline resulted in the offspring sex ratios being invariably 1:1. These results suggest that the factor responsible for the sex ratio deviation in Ukrainian drosophilid populations from the theoretically expected is of bacterial nature.

Key words: *Drosophila melanogaster*, natural populations, sex.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М.Федченко